DOI: https://doi.org/10.17816/EID654005 EDN: LLZXLI

Характеристика уникальных завозных штаммов холерных вибрионов, вызвавших в 2023 году в Москве случаи острой кишечной инфекции

Е.В. Монахова, В.Д. Кругликов, О.А. Подойницына, А.С. Водопьянов, Н.Б. Непомнящая, А.В. Евтеев, Н.Е. Гаевская

Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт, Ростов-на-Дону, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. В 2023 году в России впервые были зарегистрированы два случая острой кишечной инфекции, вызванные идентичными штаммами *Vibrio cholerae* Эль-Тор, содержащими профаг preCTX и классический аллель гена *tcpA*. Заболевшие накануне посетили страны Азии (Индонезию, Бангладеш, Индию). Для определения патогенетического потенциала возбудителей требовалась их детальная молекулярно-генетическая характеристика.

Цель исследования — фенотипическая и генотипическая характеристика штаммов *Vibrio cholerae* O1, завезённых в Москву в 2023 году и выделенных от больных острой кишечной инфекцией.

Материалы и методы. В работе использованы полногеномные сиквенсы (WGSs), полученные на платформе MiSeq Illumina. Биоинформационный анализ выполняли с помощью программ Vector NTI Advance, BioEdit, BLASTN, BLASTP, CARD, пакетов pygenomeviz, biopython.

Результаты. Исследуемые штаммы относились к биовару Эль-Тор, серовару Огава, имели одинаковые спектры антибиотикорезистентности. В их геномах присутствовали профаги preCTX и RS1 с уникальным составом генов. RS1 содержал ген $rstR^{calc}$ (Калькутта), а RS2-элемент preCTX — $rstR^{class}$ (классический), а также дополнительный ген *orfX* с неизвестной функцией. В полном острове патогенности VPI-1 *tcp*-кластер, ответственный за продукцию токсин-корегулируемых пилей, имел существенные отличия от прототипов по генам *tcpF* и *toxT*, но их продукты сохранили характерные активные домены. Ген *tcpA* относился к классическому типу, но отличался от прототипа тремя однонуклеотидными полиморфизмами. У штаммов также обнаружен обширный набор характерных для вибрионов Эль-Тор интактных генетических детерминант факторов патогенности, достаточных для реализации патогенетического потенциала.

Заключение. Изученные штаммы холерных вибрионов были завезены из Индии, Бангладеш либо Индонезии и связаны единым источником заражения и фактором передачи инфекции. Риск завоза таких и подобных штаммов сохраняется, и охарактеризованные изоляты могут быть использованы в качестве эталонных при мониторинговых исследованиях на холеру на территории Российской Федерации.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae* O1; preCTX; RS1; TCP; факторы патогенности; биоинформационный анализ; патогенетический потенциал.

Как цитировать:
Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Подойницына О.А., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б., Евтеев А.В., Гаевская Н.Е. Характеристика уникальных завозных штаммов холерных вибрионов, вызвавших в 2023 году в Москве случаи острой кишечной инфекции // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2024. Т. 29, № 6. С. 407–414. DOI: 10.17816/EID654005 EDN: LLZXLI

Рукопись получена: 06.02.2025 **Рукопись одобрена:** 24.03.2025 **Опубликована online:** 08.04.2025

ЭКО • ВЕКТОР

Статья доступна по лицензии CC BY-NC-ND 4.0 International
© Эко-Вектор, 2024

DOI: https://doi.org/10.17816/EID654005 EDN: LLZXLI

Characteristics of Unique Imported Vibrio cholerae Strains Which Caused Cases of Acute Intestinal Infection in Moscow in 2023

Elena V. Monakhova, Vladimir D. Kruglikov, Oksana A. Podoinitsyna, Alexey S. Vodopyanov, Natalia B. Nepomnyashchaya, Artem V. Evteev, Natalia E. Gaevskaya

Rostov-on-Don Plague Control Researsh Institute, Rostov-on-Don, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: In 2023, two cases of acute intestinal infection caused by identical strains of *Vibrio cholerae El Tor* carrying the preCTX prophage and the classical allele of the *tcpA* gene were reported in Russia for the first time. The patients had recently visited Asian countries (Indonesia, Bangladesh, and India). A detailed molecular genetic characterization of the pathogens was required to assess their pathogenic potential.

AIM: To provide phenotypic and genotypic characteristics of *Vibrio cholerae* O1 strains imported to Moscow in 2023 and isolated from patients with acute intestinal infection.

METHODS: In this study, whole-genome sequences (WGSs) were obtained using the *MiSeq Illumina* platform. Bioinformatics analysis was performed using *Vector NTI Advance, BioEdit, BLASTN*, BLASTP, and CARD, as well as the *pygenomeviz* and *biopython* packages.

RESULTS: The studied strains belonged to the biovar *El Tor*, serovar *Ogawa*, and had identical antibiotic resistance profiles. Their genomes contained the preCTX and RS1 prophages with a unique gene composition. RS1 harbored the $rstR^{calc}$ gene (*Calcutta* variant), while the RS2 element of preCTX contained the $rstR^{class}$ gene (classical variant), as well as an additional *orfX* gene of unknown function. Within the complete VPI-1 pathogenicity island, the *tcp* cluster — responsible for the production of toxin-coregulated pili — demonstrated significant differences from prototypes in the *tcpF* and *toxT* genes, although their products retained characteristic active domains. The *tcpA* gene was of the classical type but differed from the prototype by three single nucleotide polymorphisms. The strains also possessed a wide array of intact genetic determinants of pathogenicity factors characteristic for the biovar *El Tor*, sufficient to express its full pathogenic potential.

CONCLUSION: The analyzed *Vibrio cholerae* strains were imported from India, Bangladesh, or Indonesia and are linked by a common source of infection and a transmission pathway. The risk of further importation of such or similar strains persists, and the characterized isolates can be used as reference strains for cholera surveillance studies in the Russian Federation.

Keywords: *Vibrio cholerae* O1; preCTX; RS1; TCP; pathogenicity factors; bioinformatics analysis; pathogenetic potential.

To cite this article:
Monakhova EV, Kruglikov VD, Podoinitsyna OA, Vodopyanov AS, Nepomnyashchaya NB, Evteev AV, Gaevskaya NE. Characteristics of Unique Imported Vibrio cholerae Strains Which Caused Cases of Acute Intestinal Infection in Moscow in 2023. *Epidemiology and Infectious Diseases.* 2024;29(6):407–414. DOI: 10.17816/EID654005 EDN: LLZXLI

Submitted: 06.02.2025 **Accepted:** 24.03.2025 **Published online:** 08.04.2025

ECO•VECTOR

The article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International license
© Eco-Vector, 2024

ОБОСНОВАНИЕ

В течение последних 15 лет редкие случаи холеры, вызванные эпидемически значимыми штаммами возбудителя, зарегистрированные на территории Российской Федерации (РФ), носили спорадический характер и были связаны исключительно с завозами из Индии. Их возбудители являются представителями гаитянской (2010) и постгаитянской (2012, 2014, 2023) групп, занимающих доминирующую позицию в этиологии холеры в мире [1, 2]. Вместе с тем в 2023 году в Москве были впервые выявлены двое больных с клинической картиной острой кишечной инфекции, вызванной нетоксигенными (лишёнными генов холерного токсина *ctxAB*) штаммами, содержащими в геноме профаг preCTX и ген структурной единицы токсин-корегулируемых пилей *tcpA* классического типа, при этом последний отличался от прототипа наличием трёх однонуклеотидных замен (Single Nucleotide Polymorphism, SNP). Известно, что заболевшие в составе группы российских граждан посетили с рабочим визитом Индонезию, Бангладеш и Индию, откуда накануне вернулись в Москву спецрейсом из Дели. Следует упомянуть, что в составе этой же группы находился гражданин РФ, заболевший холерой, вызванной токсигенным постгаитянским штаммом, что свидетельствует об отдельном источнике заражения. Второй токсигенный штамм был выделен в этом же году в Тамбовской области в результате независимого завоза гражданами Индии.

Филогенетический анализ полногеномных сиквенсов (Whole Genome Sequences, WGSs) показал, что если оба упомянутых токсигенных изолята на дендрограмме сгруппировались с рядом штаммов, выделенных в 2021–2023 годах в зарубежных странах (Африка, Австралия, Пакистан, США), то нетоксигенные штаммы, несущие профаг preCTX, образовали отдельный, дистанцированный от всех остальных кластер, т.е. обладали уникальным генотипом [2]. Поскольку эти штаммы явились этиологическими агентами острой кишечной инфекции, опубликованная краткая информация явно нуждалась в более детальном представлении, включающем биоинформационный анализ входящих в состав геномов отдельных генов факторов патогенности, а также их кластеров и геномных островов с целью определения потенциальной способности к экспрессии, от чего зависит степень вирулентности и этиологической опасности.

ЦЕЛЬ

Детальная фенотипическая и генотипическая характеристика штаммов *Vibrio cholerae* O1, завезённых в Москву в 2023 году и выделенных от больных острой кишечной инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования явились штаммы *V. cholerae* O1, выделенные в 2023 году в Москве от госпитализированных больных острой кишечной инфекцией, вернувшихся из рабочей поездки в страны Юго-Восточной Азии. От одного больного получен штамм 132, от второго — 3 практически идентичные субкультуры одного и того же штамма (226, 228 и 264). Штаммы хранились в лиофилизированном состоянии в коллекции живых культур Референс-центра по мониторингу за холерой при Ростовском-на-Дону противочумном институте. После высева из ампул культуры проверяли на сохранение всех ранее определённых свойств, для чего изучали их фенотипические и генотипические признаки, включая чувствительность/устойчивость к антибиотикам, в том числе методом полимеразной цепной реакции в соответствии с МУК 4.2.3745-22[1].

В работе использовали WGSs вышеназванных штаммов, полученные на платформе MiSeq Illumina (Illumina Inc., США). Для идентификации в WGSs генетических детерминант факторов патогенности и персистенции использовали программы BLASTN 2.2.29 (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov) и BioEdit 7.2.5 (http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit), для определения антибиотикоустойчивости — базу CARD (https://card.mcmaster.ca) и дополнительно набор встречающихся у холерных вибрионов соответствующих генов, описанный ранее [3]. Анализ генов и продуктов их трансляции проводили с помощью компонентов пакета программ Vector NTI Advance 11 (Invitrogen). Поиск гомологичных аминокислотных последовательностей белков и выявление в них потенциальных активных доменов выполняли в программе BLASTP (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov). Прототипами служили нуклеотидные последовательности штаммов *V. cholerae* N16061 биовара Эль-Тор (AE003852, AE003853) и O395 классического биовара (CP045718, CP045719). Манипуляции с последовательностями кластеров и визуализация данных проводились с помощью скриптов на языке Python и пакетов pygenomeviz, biopython (https://github.com/moshi4/pyGenomeViz).

Этическая экспертиза

Неприменимо.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Взятые в исследование штаммы обладали всеми фенотипическими характеристиками вида *V. cholerae*, относились к биовару Эль-Тор, серовару Огава. Все они имели один и тот же спектр чувствительности/устойчивости к антибиотикам: были чувствительны к ципрофлоксацину, гентамицину, цефтриаксону, левомицетину, доксициклину, тетрациклину, кларитромицину, азитромицину, цефотаксиму, моксифлоксацину, цефаклору и устойчивы к ампициллину, рифампицину, тобрамицину, стрептомицину, амикацину, налидиксовой кислоте.

Ранее в WGSs исследуемых штаммов были выявлены все гены профага preCTX — RS2-элемента (*rstRAB*) и дополнительных факторов патогенности: *cep* (core encoded pilin), *ace* (accessory cholera enterotoxin) и *zot* (zonula occludence

[1] Методические указания МУК 4.2.3745-22. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы лабораторной диагностики холеры. Режим доступа: https://docs.cntd.ru/document/350413501 Дата обращения: 15.11.2024.

toxin), причём С-концевая последовательность последнего существенно отличалась от таковой прототипного гена, входящего в состав профага CTX, присутствующего в геномах токсигенных штаммов. Эта особенность характерна именно для preCTX, признанного предшественником CTX, который вместе с генами холерного токсина *ctxAB* приобрёл новый (канонический) конец *zot* [4]. Профаг содержал также гены *psh* и *orfU* (*pIII*^{CTX}), однако эти детерминанты находились в нескольких коротких контигах, имеющих на концах перекрывающиеся последовательности. В рамках настоящего исследования нам удалось собрать полную последовательность preCTX, а также профага RS1 (рис. 1).

Профаг preCTX имел в RS2-элементе ген *rstR* классического типа и дополнительный ген, обозначенный нами как *orfX*. У большинства холерных вибрионов такой ген отсутствует, однако в базе данных генов Национального центра биотехнологической информации США (National Center for Biotechnological Information, NCBI) у отдельных штаммов были найдены его гомологи, в частности у выделенных на Тайване (2002) и в Уганде (2015). Продукты их трансляции (HAS3381368, HAS3410378, PYC77001) не имели потенциальных активных доменов, но в аннотациях обозначены как «белок хемотаксиса», функция которого точно не установлена.

Интересную особенность имел профаг RS1: ген *rstR* длиной 180 пар нуклеотидов (п.н.) относился к типу Калькутта, характерному для вибрионов серогруппы O139 [5, 6], но иногда встречающемуся и у представителей *V. cholerae* O1 (WP_000201563, EGQ7979904, EGQ8141952). У исследуемых штаммов этот профаг находится на малой хромосоме, тогда как для определения локализации preCTX требуется гибридная сборка генома.

У обоих возбудителей присутствует полный остров патогенности VPI-1 (Vibrio Pathogenicity Island), имеющий кластеры *AldA* с генами *aldA*, *tagA* и открытыми рамками считывания с точно не установленной функцией; *tcp*, ответственный за продукцию пилей адгезии, и *Acf*, включающий гены дополнительных факторов колонизации [7]. Центральный кластер *tcp* в целом был близок таковым штаммов Эль-Тор и классического, однако его ген *tcpF* настолько отличался от прототипов, что его не узнавали программы Blast-поиска, и он был выявлен только в WGSs. Продукт его трансляции, несмотря на иной аминокислотный состав, имел такой же активный домен, а в базе NCBI найдены его гомологи, идентичные на 99% (EGR4403235, NOE84825, NOE95797, NOF00903, NOF18360). Ген *toxT* также значительно отличался от прототипов, особенно в проксимальном участке (1–436 п.н.), а дистальный участок (437–831 п.н.) содержал 17 SNP, в большинстве молчащие мутации, так как в продукте трансляции С-концевой участок (144–277) содержал только две замены, тогда как в N-концевом (1–143) их было множество. Однако белок сохранил все активные домены и имел полные гомологи в NCBI (6P7R_A, AAG31795, EHE0024350, EGR4117644, EGR1124498, EGR4402848), что неудивительно, поскольку активные домены сосредоточены в основном на дистальном конце белка.

Результаты сравнительного анализа продуктов генов *tcp*-кластера исследуемых штаммов с таковыми типовых штаммов классического биовара и Эль-Тор показаны на рис. 2, из которого видны описанные различия в структуре этих и некоторых других белков.

Ген *tcpA*, как отмечено выше, относился к классическому типу, но отличался от прототипа наличием 3 SNP (G117T, A530C, A625G), два из которых — миссенс-мутации, приведшие к заменам в белке — N177T и K209E. В NCBI найдены его гомологи, отличающиеся только одной — первой — заменой (ACK75631, AHY02152, EJL6303812, KEH05472, KNH49515), принадлежавшие штаммам неO1/неO139 серогрупп, в том числе токсигенному V52 — возбудителю крупной эпидемической вспышки в Судане в 1968 году.

Остров патогенности VPI-2 присутствовал в полном составе и был практически идентичен прототипу, не считая нескольких SNP, а его *nan-nag* область была гомологична ему на 100%.

Кластер RTX, ответственный за синтез высокомолекулярного самопроцессирующегося цитотоксина-актиномодулятора MARTX, был гомологичен таковому типового штамма Эль-Тор на 99%, а ген собственно токсина *rtxA* такой же длины, как прототип Эль-Тор, содержал 13 SNP, ни один из которых не вызвал образования преждевременного стоп-кодона, шесть из них оказались молчащими, а остальные семь — миссенс-мутациями, и привели к несинонимичным заменам аминокислотных остатков в белке, не нарушив его структуру и активные домены.

Кластер генов системы секреции третьего типа (T3SS) отсутствовал, но присутствовали кластеры T6SS — основной

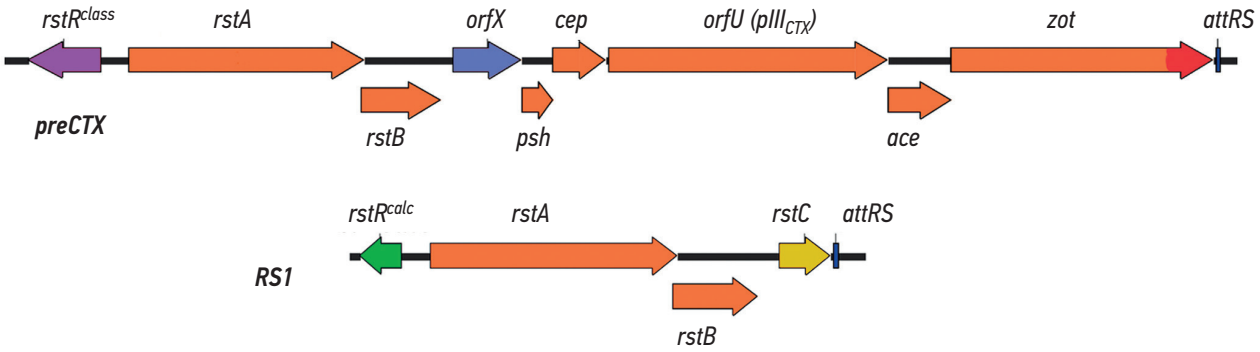

Рис. 1. Структура профагов preCTX и RS1 завозных штаммов, выделенных от больных в Москве (2023 год).

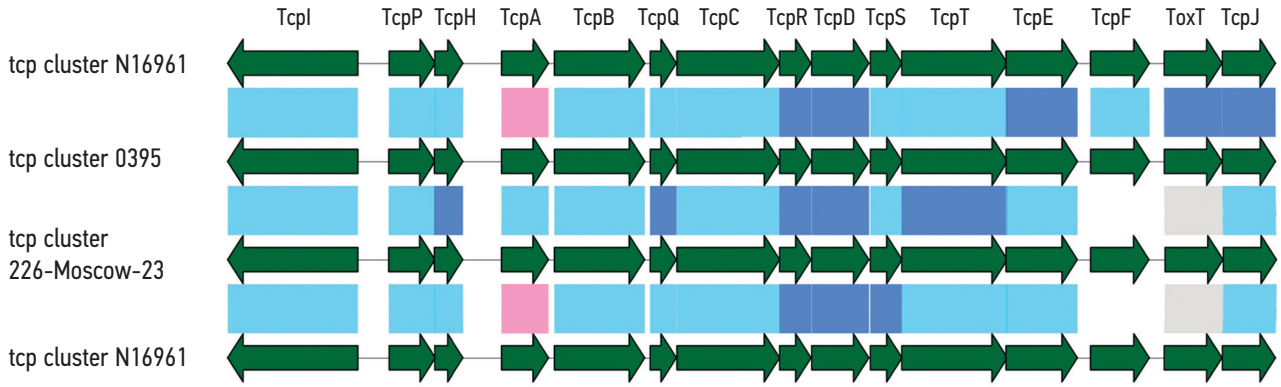

Рис. 2. Сравнение аминокислотных последовательностей продуктов генов *tcp*-кластеров штаммов *V. cholerae* N16961, O395 и 226 (Москва, 2023). Соединительные линии синего цвета обозначают 100% идентичность, голубого — идентичность в интервале 95,0–99,9%, розового — 80,0–84,9%, серого — 70,0–79,0%. Применён параметр покрытия при попарном сравнении белков (70%). Между последовательностями, для которых процент покрытия ниже 70%, сравнения не проводилось, соединительные линии отсутствуют.

и дополнительные (AUX1, AUX2 и AUX3) с детерминантами структурных элементов и эффекторов данной системы секреции, которые были гомологичны прототипам на 99–100%.

Кластер *msh*, ответственный за продукцию маннозочувствительных пилей (Mannose-Sensitive Hemagglutinin, MSHA), был идентичен прототипу на 99%, а кластеры, обеспечивающие синтез полисахаридов (Vibrio Polysaccharide, VPS) и белков *vps-I-rbm-vps-II*, имели больше отличий и совпадали только на 97,5%.

Идентичными прототипам или очень близкими к ним оказались и гены дополнительных факторов патогенности: гемолизина/цитолизина HlyA, цитотонического фактора CefE1, гемагглютинин/протеазы HA/P, коллагеназы VchC, металлопротеазы PrtV, сериновых протеаз VesA, VesB, VecC, IvaP, RssP, белков наружной мембраны OmpU, OmpT и OmpW, а также регуляторов транскрипции ToxR, HapR, LuxO, CdgA, AphA, AphB, Hns, CytR.

Острова патогенности VSP-I и VSP-II отсутствовали, имелись только фланкирующие их гены (соответственно VC0141 и VC0153, VC0459 и VC0517), а в месте вставки VSP-II присутствовала последовательность *tRNAmet8*.

Генов cholix-токсина *chxA* и термостабильного токсина *stn/sto* не выявлено.

Что касается детерминант лекарственной устойчивости, то программой CARD обнаружены только оперон *alm* (резистентность к полимиксину), гены β-лактамазы *varG* (к карбопенемам) и *qnrVC4* (к фторхинолонам), а также эффлюкс-помпы CRP. Нами с помощью программы BioEdit дополнительно найдены детерминанты эффлюкс-помп *VcmA*, *B*, *D*, *H*, *N*, *VcrM*, *VC1634*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты подробного биоинформационного анализа завозных клинических штаммов подтвердили ранее полученные данные об их уникальности, которые показали отсутствие родственных связей с другими изолятами и образование отдельного удалённого кластера [2]. Уникальность касалась прежде всего структуры профагов preCTX и RS1 в том смысле, что в NCBI отсутствовали идентичные им полные последовательности, хотя выявлены некоторые совпадения по отдельным генам. Это неудивительно, поскольку отражает крайнюю гетерогенность данных профагов и их мозаичную структуру. На сегодняшний день известно, что разные типы профагов preCTX могут находиться не только в виде отдельных копий, но и образовывать тандемы в пределах одного генома, встраиваясь как в большую, так и в малую хромосому. Тандемы могут включать preCTX-preCTX, preCTX-CTX, CTX-RS1-preCTX и другие варианты, причём профаги могут быть представлены как идентичными, так и неодинаковыми типами [8, 9]. Типы профагов различают по структуре генов RS2-элемента, в первую очередь гена *rstR*, имеющего наибольшее число аллелей. Самые известные из них — rst^{ET} (El Tor), $rstR^{class}$ (classical), $rstR^{calc}$ (Calcutta), $rstR^{env}$ (environmental) [10, 11], но в последние годы описано множество дополнительных аллелей [6, 9]. Сосуществование профагов с разными аллелями возможно, скорее, не в результате одновременного инфицирования двумя разными фагами CTXφ/preCTXφ [12], а потому что каждый может обеспечивать иммунитет к суперинфицированию только гомологичным фагом, но не фагами других типов [5, 6].

Как отмечено выше, у исследуемых штаммов в RS2-элементе выявлен ген $rstR^{class}$, а в профаге RS1 — $rstR^{calc}$. Происхождение «лишнего» гена *orfX*, локализованного ниже *rstB* в preCTX исследуемых штаммов, остаётся неизвестным. В литературе описан всего один случай присутствия дополнительного гена, обозначенного *rstU*, в профаге RS1 штамма, выделенного в Китае из внешней среды (KP768424) [8]. Авторы отмечают его полную гомологию гену субъединицы D фумаратредуктазы, и он не имеет ничего общего с найденной нами *orfX*, продукт которой описан в NCBI как «белок хемотаксиса».

Другая особенность исследуемых штаммов состояла в необычной структуре гена $tcpA^{class}$, который отличался от прототипа наличием 3 SNP, а также существенно изменёнными генами *tcp*-кластера — *tcpF* и *toxT*, продукты трансляции

которых, тем не менее, сохранили все активные домены. В NCBI обнаружено пять 99% гомологов первого, для второго тоже нашлись пять 99% гомологов, для третьего — шесть 100%, но совместно второй и третий присутствовали только у одного штамма, остальные относились к разным штаммам, ни один не сочетался с упомянутым вариантом TcpA. Это вполне согласуется с мозаичной структурой *tcp*-кластера, в котором наибольшей вариабельностью обладает *tcpA* [7, 13]. Разными авторами описаны множественные аллели этого гена и некоторых других данного кластера [14, 15]. Неоднократно высказывалось мнение, что вариабельность генов в составе как VPI-1, так и CTX/preCTX играет важную роль в эволюции холерных вибрионов, способствуя формированию новых клонов с повышенным персистентным, патогенным и эпидемическим потенциалом за счёт генетического обмена между штаммами [14–16].

Случаи острой кишечной инфекции, вызванные штаммами *V. cholerae* O1, содержащими профаг preCTX, выявлены в России впервые, ранее они изредка обнаруживались только в водных объектах окружающей среды (Москва, 1977; Крым, 1991; Ростов-на-Дону, 1982, 1987, 2007), а от больных выделялись в Узбекистане (1988, 1990). Единственный клинический изолят (Ростов-на-Дону, 1981) принадлежал к неO1/неO139 (O8) серогруппе [17]. В РФ крайне редко встречающиеся preCTX$^+$VPI$^+$ штаммы появляются в результате заносов из зарубежных стран, скорее всего, азиатских, где имеют большее распространение и вызывают заболевания людей. В частности, такие штаммы выявлялись в Китае среди изолятов, отнесённых к генетическим линиям L3b и L9, при этом авторы при их описании назвали штаммы эпидемическими и потенциально способными к глобальному распространению [18, 19]. Действительно, два preCTX$^+$VPI$^+$ штамма линии L3b были выделены от больных в Швейцарии [20]. Все ранее изученные штаммы нашей коллекции с таким генотипом, независимо от источника выделения и серогрупповой принадлежности, на модели кроликов-сосунков вызывали выраженный энтеропатогенный эффект, иногда сходный с холерогенным [17]. Их повышенный патогенетический потенциал напрямую связан с присутствием preCTX, содержащего гены токсинов Zot и Ace, а также дополнительного фактора колонизации Cep, и с островом VPI-1, в состав которого входят детерминанты не только ключевого фактора колонизации TCP, но также и дополнительных Acf. Кроме того, они имеют, как правило, практически полный «стандартный» набор интактных детерминант факторов патогенности, характерный для вибрионов Эль-Тор: остров VPI-2, кластеры T6SS, RTX, *msh*, гены гемолизина *hlyA*, цитотонического токсина *cef*, металлопротеаз *hapA*, *prtV*, *vchC*, сериновых протеаз *vesA*, *vesB*, *vecC*, *ivaP*, *rssP*, белков наружной мембраны *ompU*, *ompT*, *ompW*, каждый из которых может вносить тот или иной вклад в патогенез [3].

Что касается детерминант лекарственной устойчивости, то их в WGS было найдено совсем немного, что не отражало фенотипическую резистентность *in vitro*. Возможно, устойчивость к ампициллину была обусловлена наличием гена β-лактамазы *varG*, а присутствие *qnrVC4* не обеспечило резистентности к фторхинолонам (ципрофлоксацину, моксифлоксацину). Генов, связанных с устойчивостью к рифампицину, тобрамицину, стрептомицину, амикацину, не обнаружено. Вероятно, у штаммов либо имеются другие, ещё не описанные детерминанты резистентности, либо последняя обусловлена работой эффлюкс-помп [21]. Такие несоответствия фенотипа и генотипа обнаруживались и у других штаммов [3, 22, 23]. Именно поэтому при необходимости выбора наиболее эффективного препарата для этиотропной терапии острой кишечной инфекции следует ориентироваться в основном на фенотип изолята.

Возможно, возбудители имели индийское происхождение, хотя не исключено, что заражение могло произойти и в Индонезии, и в Бангладеш, где заболевшие проживали в одних и тех же отелях и перелёты совершали одним и тем же спецрейсом, поэтому вероятен как пищевой путь передачи возбудителя, так и контактно-бытовой либо водный (от напитков со льдом). Сообщения об обнаружении холерных вибрионов (в том числе токсигенных и обладающих множественной лекарственной устойчивостью) в «съедобном» льду и охлаждённых им напитках [24, 25], на оборудовании линий производства последних [26], в овощах и фруктах уличных торговцев [27] поступали в основном из Индонезии. В то же время холерные вибрионы находили и в Бангладеш в продаваемых на улицах пищевых продуктах, но их характеристики не приводятся[2], а в овощах и зелени были найдены лишь *Vibrio spp*. без видовой идентификации [28]. В Индии же при аналогичных исследованиях салатных овощей было выявлено множество патогенных бактерий, но о вибрионах нет даже упоминаний [29]. Тем не менее все эти исследования имеют весьма ограниченный и нерегулярный характер, а риск заражения холерой пищевым либо водным путём не вызывает сомнений. Так, в Южном Вьетнаме вспышку холеры 2010 года связывали с употреблением чая, охлаждённого льдом [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённый биоинформационный анализ полногеномных сиквенсов штаммов *V. cholerae* O1, выделенных в 2023 году от двух больных острой кишечной инфекцией, вернувшихся в Москву после кратковременного посещения Индонезии, Бангладеш и Индии, позволил установить состав и особенности структуры имеющихся у них генов, их кластеров, геномных островов и профагов. Идентичность возбудителей друг другу позволяет говорить о едином источнике заражения и факторе передачи инфекции. Мы назвали эти штаммы уникальными только в том смысле, что присутствующие в их геномах профаги preCTX, RS1 и *tcp*-кластер не имели полных гомологов ни среди таковых штаммов нашей коллекции, ни среди представленных

[2] Ahamad R. Harmful street-vended food in Dhaka. NEWAGE Bangladesh; 2020. Available from: https://www.newagebd.net/article/100735/harmful-street-vended-food-in-dhak

в NCBI, хотя встречались отдельные совпадения. Уникальными, скорее, являются сочетания аллелей в перечисленных элементах, и с этой точки зрения многие из изолятов с другими сочетаниями тоже могут оказываться в своём роде уникальными, однако в Россию были впервые завезены именно такие варианты. Они обладают обширным спектром интактных детерминант факторов патогенности, достаточным для реализации патогенетического потенциала, в связи с чем являются потенциально опасными для здоровья населения.

Риски завоза таких и подобных штаммов сохраняются, и охарактеризованные изоляты могут быть использованы в качестве эталонных при мониторинговых исследованиях на холеру на территории РФ.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Е.В. Монахова — анализ данных литературы и полногеномного секвенирования, написание текста и подготовка рукописи к публикации; В.Д. Кругликов — анализ данных, обсуждение результатов, редактирование рукописи; О.А. Подойницына — сравнительный анализ структуры белков, подготовка рисунков; А.С. Водопьянов — проведение полногеномного секвенирования, идентификация генетических детерминант; Н.Б. Непомнящая — фенотипическая и ПЦР-идентификация исследуемых штаммов; А.В. Евтеев — определение антибиотикорезистентности; Н.Е. Гаевская — сбор и анализ информации о завозе и выделении штаммов, их характеристика. Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты работы и гарантировали, что вопросы, связанные с точностью или добросовестностью любой части работы, будут должным образом рассмотрены и решены.

Этическая экспертиза. Неприменимо.

Источники финансирования. Отсутствуют.

Раскрытие интересов. Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов (личных, профессиональных или финансовых), связанных с третьими лицами (коммерческими, некоммерческими, частными), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи, а также иных отношений, деятельности и интересов за последние три года, о которых необходимо сообщить.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. E.V. Monakhova — analysis of literature and whole-genome sequencing data, writing the text and preparing the article for publication; V.D. Kruglikov — data analysis, discussion of results, editing the article; O.A. Podoinitsyna — comparative analysis of protein structure, preparation of figures; A.S. Vodopyanov — whole-genome sequencing, identification of genetic determinants; N.B. Nepomnyashchaya — phenotypic and PCR identification of the studied strains; A.V. Evteev — determination of antibiotic resistance; N.E. Gaevskaya — collecting and analysis of information on the importation and isolation of strains, their characteristics. Thereby, all authors provided approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Ethics approval. Not applicable.

Funding sources. None.

Disclosure of interests. The authors have no relationships, activities or interests for the last three years related with for-profit or not-for-profit third parties whose interests may be affected by the content of the article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Monakhova EV, Ghosh A, Mutreja A, et al. Endemic cholera in India and imported cholera in Russia: What is common? *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020;(3):17–26. (In English). doi: 10.21055/0370-1069-2020-3-17-26 EDN: SAPFLG

2. Popova AYu, Noskov AK, Ezhlova EB, et al. Epidemiological situation on cholera in the Russian Federation in 2023 and forecast for 2024. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2024;(1):76–88. doi: 10.21055/0370-1069-2024-1-76-88 EDN: IPVMUO

3. Monakhova EV, Vodop'yanov AS, Kruglikov VD, et al. Molecular genetic characteristics of Vibrio cholerae nonO1/nonO139 strains isolated on the territory of Russian Federation from patients with otitis. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2022;99(4):465–477 doi: 10.36233/0372-9311-215 EDN: NGXMCM

4. Boyd EF, Heilpern AJ Waldor MK. Molecular analyses of a putative CTXphi precursor and evidence for independent acquisition of distinct CTX(phi)s by toxigenic Vibrio cholerae. *J Bacteriol.* 2000;182(19):5530–5538. doi: 10.1128/JB.182.19.5530-5538.2000

5. Davis BM, Kimsey HH, Chang W, Waldor MK. The Vibrio cholerae O139 Calcutta bacteriophage CTXphi is infectious and encodes a novel repressor. *J Bacteriol.* 1999;181(21):6779–6787. doi: 10.1128/JB.181.21.6779-6787.1999

6. Li X, Zhao L, Gao H, et al. A novel pre-CTX prophage in the Vibrio cholerae serogroup O139 strain. *Infect Genet Evol.* 2020;81:104238. doi: 10.1016/j.meegid.2020.104238 EDN: PJJVHQ

7. Kumar A, Das B, Kumar N. Vibrio Pathogenicity Island-1: The master determinant of cholera pathogenesis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10:561296. doi: 10.3389/fcimb.2020.561296 EDN: DNHDNG

8. Wang H, Pang B, Xiong L, et al. The hybrid pre-CTX-RS1 prophage genome and its regulatory function in environmental Vibrio cholerae O1 strains. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81(20):7171–7177. doi: 10.1128/AEM.01742-15

9. Li X, Han Y, Zhao W, et al. Diversity and complexity of CTXΦ and pre-CTXΦ families in Vibrio cholerae from seventh pandemic. *Microorganisms.* 2024;12(10):1935. doi: 10.3390/microorganisms12101935 EDN: JVFBHC

10. Nusrin S, Khan GY, Bhuiyan NA, et al. Diverse CTX phages among toxigenic Vibrio cholerae O1 and O139 strains isolated between 1994 and 2002 in an area where cholera is endemic in Bangladesh. *J Clin Microbiol.* 2004;42(12):5854–5856. doi: 10.1128/JCM.42.12.5854-5856.2004

11. Choi SY, Lee JH, Kim EJ, et al. Classical RS1 and environmental RS1 elements in Vibrio cholerae O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. *J Med Microbiol.* 2010; 59(Pt 3):302–308. doi: 10.1099/jmm.0.017053-0

12. Maiti D, Das B, Saha A, et al. Genetic organization of pre-CTX and CTX prophages in the genome of an environmental Vibrio cholerae non-O1, non-O139 strain. *Microbiology.* 2006;152(Pt 12):3633–3641. doi: 10.1099/mic.0.2006/000117-0

13. Tay CY, Reeves PR, Lan R. Importation of the major pilin TcpA gene and frequent recombination drive the divergence of the Vibrio pathogenicity island in Vibrio cholerae. *FEMS Microbiol Lett.* 2008;289(2):210–218. doi: 10.1111/j.1574-6968.2008.01385.x

14. Mukhopadhyay AK, Chakraborty S, Takeda Y, et al. Characterization of VPI pathogenicity island and CTXphi prophage in environmental strains of Vibrio cholerae. *J Bacteriol.* 2001;183(16):4737–4746. doi: 10.1128/JB.183.16.4737-4746.2001

15. Li F, Du P, Li B, et al. Distribution of virulence-associated genes and genetic relationships in non-O1/O139 Vibrio cholerae aquatic isolates from China. *Appl Environ Microbiol.* 2014;80(16):4987–4992. doi: 10.1128/AEM.01021-14

16. Irenge LM, Ambroise J, Bearzatto B, et al. Genomic evolution and rearrangement of CTX-Φ prophage elements in Vibrio cholerae during the 2018-2024 cholera outbreaks in eastern Democratic Republic of the Congo. *Emerg Microbes Infect.* 2024;13(1):2399950. doi: 10.1080/22221751.2024.2399950 EDN: LXYKTI

17. Monakhova EV, Mironova AV, Alekseeva LP, Mazrukho AB. Virulence of pre-CTXphi-carrying Vibrio cholerae: Genotypic and phenotypic characteristics. *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* 2008;(4):27–32. EDN: JUXZUH

18. Wang H, Yang C, Sun Z, et al. Genomic epidemiology of Vibrio cholerae reveals the regional and global spread of two epidemic non-toxigenic lineages. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020;14(2):e0008046. doi: 10.1371/journal.pntd.0008046 EDN: YMFFVN
19. Hao T, Zheng W, Wu Y, et al. Population genomics implies potential public health risk of two non-toxigenic Vibrio cholerae lineages. *Infect Genet Evol.* 2023;112:105441. doi: 10.1016/j.meegid.2023.105441 EDN: KDWUCX
20. Meyer N, Stephan R, Cernela N, et al. Genomic characteristics of clinical non-toxigenic Vibrio cholerae isolates in Switzerland: a cross-sectional study. *Swiss Med Weekly.* 2024;154:3437. doi: 10.57187/s.3437 EDN: RTWOVU
21. Das B, Verma J, Kumar P, et al. Antibiotic resistance in Vibrio cholerae: understanding the ecology of resistance genes and mechanisms. *Vaccine.* 2020;38(Suppl 1):A83–A92. doi: 10.1016/j.vaccine.2019.06.031 EDN: DDDOZH
22. Lepuschitz S, Baron S, Larvor E, et al. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance traits of Vibrio cholerae non-O1/non-O139 isolated from a large Austrian lake frequently associated with cases of human infection. *Front Microbiol.* 2019;10:2600. doi: 10.3389/fmicb.2019.02600
23. Selyanskaya NA, Egiazaryan LA, Ezhova MI, et al. Analysis of antibiotic resistance of Vibrio cholerae isolated from environmental objects in Russia in 2019. *Antibiotics and Chemotherapy.* 2021;66(3-4):4–11. (In Russian) doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-3-4-4-11 EDN: LPLLFZ
24. Waturangi DE, Wennars M, Suhartono MX, Wijaya YF. Edible ice in Jakarta, Indonesia, is contaminated with multidrug-resistant Vibrio cholerae with virulence potential. *J Med Microbiol.* 2013;62(Pt 3):352–359. doi: 10.1099/jmm.0.048769-0
25. Waturangi DE, Pradita N, Linarta J, Banerjee S. Prevalence and molecular characterization of Vibrio cholerae from ice and beverages sold in Jakarta, Indonesia, using most probable number and multiplex PCR. *J Food Prot.* 2012;75(4):651–659. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-11-504
26. Nababan H, Rahayu WP, Waturangi DE, et al. Critical points and the presence of pathogenic bacteria in iced beverage processing lines. *J Infect Dev Ctries.* 2017;11(6):493–500. doi: 10.3855/jidc.8934
27. Budiman A, Kurnia K, Waturangi DE. Prevalence and molecular characterization of Vibrio cholerae from fruits and salad vegetables sold in Jakarta, Indonesia, using most probable number and PCR. *BMC Res Notes.* 2022;15(1):63. doi: 10.1186/s13104-022-05955-y EDN: MNMWTM
28. Ferdous R, Sultana N, Hossain MB, et al. Exploring the potential human pathogenic bacteria in selected ready-to-eat leafy greens sold in Dhaka City, Bangladesh: Estimation of bacterial load and incidence. *Food Sci Nutr.* 2023;12(2):1105–1118. doi: 10.1002/fsn3.3825 EDN: ZXYQKZ
29. Nithya A, Babu S. Prevalence of plant beneficial and human pathogenic bacteria isolated from salad vegetables in India. *BMC Microbiol.* 2017;17(1):64. doi: 10.1186/s12866-017-0974-x EDN: YXFUCP
30. Nguyen TV, Pham QD, Do QK, et al. Cholera returns to southern Vietnam in an outbreak associated with consuming unsafe water through iced tea: A matched case-control study. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(4):e0005490. doi: 10.1371/journal.pntd.0005490

ОБ АВТОРАХ

*** Монахова Елена Владимировна**, д-р биол. наук;
адрес: Россия, 344002, Ростов-на-Дону,
ул. М. Горького, д. 117/40;
ORCID: 0000-0002-9216-7777;
eLibrary SPIN: 3091-5680;
e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru

Кругликов Владимир Дмитриевич, д-р мед. наук;
ORCID: 0000-0002-6540-2778;
eLibrary SPIN: 9767-2936;
e-mail: kruglikov_vd@antiplague.ru

Подойницына Оксана Андреевна, канд. биол. наук;
ORCID: 0000-0002-9996-4189;
eLibrary SPIN: 4424-8963;
e-mail: podoynitcina_oa@antiplague.ru

Водопьянов Алексей Сергеевич, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0002-9056-3231;
eLibrary SPIN: 7319-3037;
e-mail: vodopyanov_as@antiplague.ru

Непомнящая Наталья Борисовна;
ORCID: 0000-0003-0868-6791;
eLibrary SPIN: 3314-8774;
e-mail: nepomniashchaia_nb@antiplague.ru

Евтеев Артем Владимирович;
ORCID: 0000-0002-0087-9153;
eLibrary SPIN: 6050-0361;
e-mail: evteev_av@antiplague.ru

Гаевская Наталья Евгеньевна, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0002-0762-3628;
eLibrary SPIN: 3143-4788;
e-mail: gaevskaya_ne@antiplague.ru

AUTHORS' INFO

*** Elena V. Monakhova**, Dr. Sci. (Biology);
address: 117/40 Gorkogo st, Rostov-on-Don, Russia, 344002;
ORCID: 0000-0002-9216-7777;
eLibrary SPIN: 3091-5680;
e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru

Vladimir D. Kruglikov, MD, Dr. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-6540-2778;
eLibrary SPIN: 9767-2936;
e-mail: kruglikov_vd@antiplague.ru

Oksana A. Podoinitsyna, Cand. Sci. (Biology);
ORCID: 0000-0002-9996-4189;
eLibrary SPIN: 4424-8963;
e-mail: podoynitcina_oa@antiplague.ru

Alexey S. Vodopyanov, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-9056-3231;
eLibrary SPIN: 7319-3037;
e-mail: vodopyanov_as@antiplague.ru

Natalia B. Nepomnyashchaya;
ORCID: 0000-0003-0868-6791;
eLibrary SPIN: 3314-8774;
e-mail: nepomniashchaia_nb@antiplague.ru

Artem V. Evteev;
ORCID: 0000-0002-0087-9153;
eLibrary SPIN: 6050-0361;
e-mail: evteev_av@antiplague.ru

Natalia E. Gaevskaya, MD, Cand. Sci. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-0762-3628;
eLibrary SPIN: 3143-4788;
e-mail: gaevskaya_ne@antiplague.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author